

海馬の苔状線維終末における電位依存性カルシウムチャンネルの研究

著者	徳永 太
号	2105
発行年	2004
URL	http://hdl.handle.net/10097/22650

氏 名（本籍）	とく 徳	なが 永	たかし 太
学 位 の 種 類	博 士 （ 医 学 ）		
学 位 記 番 号	医 博 第 2 1 0 5 号		
学位授与年月日	平 成 16 年 3 月 25 日		
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻		
学 位 論 文 題 目	海馬の苔状線維終末における電位依存性カルシウムチャンネルの研究		

	(主 査)		
論 文 審 査 委 員	教授 八 尾	寛	教授 丸 山 芳 夫
	教授 柳 澤 輝 行		

論文内容要旨

ヒトの脳がいかにして人の心 (mind) を生み出すのかという心脳問題 (mind brain problem) は、今世紀以降、脳・神経科学の最大のテーマとなる。脳の主観的事象と客観的事象との断絶はこれまでに多くの学者・研究者の挑戦を退けてきた。この難問に挑む上で、エピソード記憶と海馬とをくみあわせた自然科学的研究は、有望な突破口となり得る。とりわけ、海馬の苔状線維終末が、エピソード記憶の特徴の一つである「文脈との結び付け」に中心的な役割を担っているとする「教師仮説 (teacher hypothesis)」の見地を加味すると、さらに興味深い。

筆者は、教師仮説が苔状線維終末に中心的な役割を負わせていることに着目し、苔状線維終末における電位依存性 Ca チャンネルを手がかりに、脳の主観的事象と客観的事象との断絶に迫った。用いたアプローチは以下の2つである。

アプローチ1)

苔状線維終末に存在する電位依存性 Ca チャンネルの型 (subtype) は、P/Q, N, R の3型のみであるとされる。この予測の妥当性を、海馬スライスに光学測定法を適用することで、検証した。

電位依存性 Ca チャンネルは L, P/Q, N, R, T の5型に分類されている。このうち、苔状線維終末で存在が確認されているのは、P/Q, N, R の3型であり、L や T の存在は疑問視されてきた。しかし、こうした知見は、苔状線維終末を直接に調べられたことによるものではない。苔状線維終末に対応するシナプス後ニューロンの応答を電気生理学的に精査することで得られたものである。とくに、電位依存性 L 型 Ca チャンネル (L 型 Ca チャンネル) は、苔状線維終末以外の中枢神経系の部位においても存在の可能性が示唆されており、従来とは別の角度からの検証が求められている。

筆者は、あらかじめ、苔状線維終末に存在する P/Q, N, R の3型の電位依存性 Ca チャンネルを同時に遮断した上で、苔状線維終末における L 型 Ca チャンネルの存在を検知できるか否かを確かめた。その結果、苔状線維終末における L 型 Ca チャンネルの存在の可能性を示唆する知見を得た。

L 型 Ca チャンネルは、苔状線維終末において、神経伝達物質放出と直接には関連しない機能を担っていると考えられる。

アプローチ 2)

実験式 $R = C(\Delta[Ca^{2+}]_{pre})^m$ に含まれる定数 m の生物物理学的意義を、簡単な数理的考察により、あきらかにした。

R は神経伝達物質の放出量、 C は定数、 $\Delta[Ca^{2+}]_{pre}$ はシナプス前終末の体積平均 Ca 濃度上昇、 m は定数である。このうち、 m は電位依存性 Ca チャンネルの各型に固有の定数であり、その型がどれくらい神経伝達物質放出に機能的に関連しているかを示す指標とされている。しかし、なぜ、 m をそのような指標とみなせるのかについては、厳密な考察がなされていない。

筆者は、まず、シナプス前終末の体積平均 Ca 濃度上昇の標準時間変化率 $\frac{d\Delta[Ca^{2+}]_{pre}}{dt}$ ・ $\frac{1}{\Delta[Ca^{2+}]_{pre}}$ 、および活性帯付近の局所 Ca 濃度上昇の標準時間変化率 $\frac{d\Delta[Ca^{2+}]_{AZ}}{dt}$ ・ $\frac{1}{\Delta[Ca^{2+}]_{AZ}}$ の 2 つの変量を用い、 $\frac{d\Delta[Ca^{2+}]_{pre}}{dt}$ ・ $\frac{1}{\Delta[Ca^{2+}]_{pre}}$ に対する $\frac{d\Delta[Ca^{2+}]_{AZ}}{dt}$ ・ $\frac{1}{\Delta[Ca^{2+}]_{AZ}}$ の比を、新たに活性帯付近の局所 Ca 動態コンプライアンス (compliance of local calcium dynamics in the vicinity of active zones) C_{AZ} と定義した。その上で、 C_{AZ} と m との関係性を、数式を用い、記述した。他方、シナプス前終末への Ca 流入量に対する活性帯付近への Ca 流入量の比を r_{AZ} とおき、 r_{AZ} と m との関係性を記述することにも成功した。こうした関係性は、 m が、シナプス前終末の Ca 動態と活性帯付近の局所 Ca 動態との関連の密接度を反映した生物物理学的変数であることを意味している。

以上の知見が、海馬におけるエピソード記憶の形成過程にいかに関与してくるのかについては、さらなる研究の進展を待たねばならない。いわゆる心脳問題との関わりについても同様である。しかし、今後、心脳問題が自然科学的に扱われることが珍しくなくなれば、本論文のようなアプローチが一つの定型とみなされるであろう。

審査結果の要旨

本論文は、マウス海馬苔状線維終末に存在する電位依存性カルシウムチャネルサブタイプを薬理的手法により同定したものである。デキストラン結合型カルシウム感受性色素を歯状回顆粒細胞に注入し、シナプス前終末に輸送させ、これを標識する新しい手法について詳細に検討し、苔状線維終末のみが選択的に標識されることを明らかにした。また、細胞外 Ca^{2+} を Sr^{2+} に置換し、シナプス前終末における Sr^{2+} 濃度上昇をカルシウム感受性色素で計測する新しい工夫を導入することにより、細胞内 Ca^{2+} 緩衝作用の影響を最小限にした。カルシウムチャネルサブタイプの同定に広く使われている3種類のトキシンについて精密な容量-抑制関係を解析し、これらのトキシンがサブタイプの薬理的な同定に有用であることをあらかじめ評価した。3種類のトキシンの作用にもとづいて、苔状線維終末に3種類のカルシウムチャネルサブタイプ、N、P/Q、Rを同定した。さらに、トキシン抵抗性の成分にLタイプが含まれることを薬理的に示した。さらに、苔状線維終末が解剖学的にヘテロであり、大きな終末と小さな終末で機能が異なっている可能性に注目し、CA3錐体細胞の樹状突起にシナプスを形成する大きな終末におけるカルシウムチャネルサブタイプの発現を解析した。この目的のために、共焦点顕微鏡下に同定された単一苔状線維終末における Sr^{2+} 流入を計測した。この結果、単一苔状線維終末において、N、P/Q、R、Lの少なくとも4種類のカルシウムチャネルが共存することを明らかにした。ひとつのシナプス前終末に複数のカルシウムチャネルが共存しているということから、シナプス前終末におけるカルシウム依存性伝達物質放出が多様に調節されているという概念が導かれる。本論文では、この概念を伝達物質放出とカルシウム流入の定量的関係から考察している。

本論文は、緻密な実験に基づいて、新しい知見を提出している点において、博士学位に値するものである。論文提出者においては、自分を実像より大きく見せようとすることなく、謙虚に自然と向かい合うことを心がけること、また、研究が個人の力ではなく、多くの人との直接間接の協力において作り出されるものであることをつねに自覚することを通じて、研究者として大成することが期待される。